

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N°

De l'influence
de certaines eaux minérales
sur la localisation
et l'élimination de substances
toxiques déterminées

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1930

PAR

Charles DESGREZ

Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine
Interne en Pharmacie des Hôpitaux

JURY { MM. DELÉPINE, *Président.*
SOMMELET, *Professeur agrégé.*
DELABY, *Professeur agrégé.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N°

De l'influence
de certaines eaux minérales
sur la localisation
et l'élimination de substances
toxiques déterminées

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1930

PAR

Charles DESGREZ

Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine
Interne en Pharmacie des Hôpitaux

JURY { MM. DELÉPINE, *Président.*
SOMMELET, *Professeur agrégé.*
DELABY, *Professeur agrégé.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

Personnel de la Faculté de Pharmacie



ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
 PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
 G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des médi- caments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, Membre de l'Institut, O. ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie.
LAUNOY, ✱, ☉ I.	Pharmacodynamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	MM. PICON, ☉ I.
LUTZ, ✱, ☉ I.	FABRE, ☉ A.
LAUNOY, O. ✱, ☉ A.	MASCRÉ, ☉ I.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.	BACH, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, ☉ I.	Chimie générale.
FABRE, ☉ A. et FLEURY, ☉ I. <i>agrégés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I., DELABY, ✱, ☉ A., et PICON, ☉ I. : <i>agrégés</i> , chargés des travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR DELÉPINE

Membre de l'Institut et de l'Académie de Médecine

A MES MAÎTRES DES HÔPITAUX

M. LE PROFESSEUR GOUGEROT.

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SOMMELET.

MM. LEROUX et HAZARD, Pharmaciens des Hôpitaux.

MM. LES DOCTEURS RICHEL fils, AUBERTIN, LÉRI,
JULES RENAULT, Médecins des Hôpitaux, MOU-
CHET, Chirurgien des Hôpitaux.

*Hommage de respectueuse et
affectueuse reconnaissance.*

AVANT-PROPOS

Le sujet de ce travail nous a été suggéré par une collaboration à quelques recherches d'hydrologie. Certaines eaux minérales étant considérées comme des auxiliaires efficaces de nos procédés de défense contre les intoxications, nous avons pensé qu'il serait intéressant de vérifier cette influence vis-à-vis de substances étrangères à l'organisme et de toxicité certaine, mais relativement faible. De là l'idée de nos recherches.

Avant d'en donner les résultats, nous considérons comme le plus agréable devoir d'exprimer notre reconnaissance à M. le Professeur Delépine qui a bien voulu accepter le sujet et la présidence de cette thèse, à M. le Professeur Gougerot, qui nous a fait l'honneur de nous confier la direction de son laboratoire de chimie, à M. le professeur Fosse qui nous a ouvert son laboratoire du Muséum, à MM. Pierre Régnier, Bonn, Charles Sannié et André Giberton dont les conseils nous ont été aussi précieux que l'amitié.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

De l'influence de certaines eaux minérales sur la localisation et l'élimination de substances toxiques déterminées

GÉNÉRALITÉS. BUT FONDAMENTAL ET SUJETS ACCESSOIRES DE NOS RECHERCHES

Il est de notion courante que l'organisme animal se protège contre les intoxications par la destruction, la fixation et l'élimination des poisons. On sait, d'autre part, que l'ingestion de doses convenables de certaines eaux minérales contribue à stimuler ces trois procédés de défense, en particulier par action sur le fonctionnement du foie et du rein. Les démonstrations qui en peuvent être données s'appuient principalement sur la détermination et les dosages des substances qui franchissent les émonctoires rénal et intestinal. Elles ont été faites, en majeure partie, par les praticiens des stations et leurs collaborateurs scientifiques. Il nous a paru qu'elles pourraient être tentées directement, plus qu'elles ne l'ont été jusqu'ici, par la méthode expérimentale, dont le maniement comporte une plus grande précision. Il est plus facile, en effet, de soumettre des animaux à un régime constant ; il est, d'autre part, possible d'administrer à ceux-ci

des substances plus ou moins toxiques, étrangères à l'organisme, et dont on peut déterminer la fixation, l'élimination, et même, jusqu'à un certain point, la destruction. Après avoir pratiqué en série les dosages nécessaires sur les sécrétions et les excréctions, on peut sacrifier les sujets en expérience, et analyser quelques organes intéressants. Nous avons cru devoir faire porter les recherches procédant de cette idée, d'abord sur une substance minérale, puis sur une substance organique, bien définies l'une et l'autre.

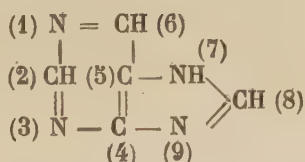
* * *

Comme matière minérale, nous avons choisi le cuivre qui nous a paru intéressant de deux points de vue essentiels : d'abord du point de vue directeur de nos recherches, c'est-à-dire hydrologique (fixation et élimination éventuelles sous l'influence d'eau minérale déterminée) ; ensuite, du point de vue des contradictions auxquelles les recherches effectuées sur la toxicité de ce métal ont donné lieu.

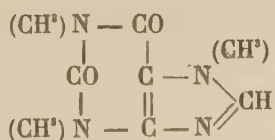
Ces deux parties de notre étude sont connexes en ce que le cuivre peut être introduit dans l'organisme soit avec des aliments de conserve que l'on reverdit à l'aide de ses composés, soit sous forme de médicament, alors que, pour cette utilisation thérapeutique des sels de cuivre, il ne semblé pas que l'on se soit suffisamment préoccupé de leur toxicité.

* * *

Comme substance organique, nous avons, après divers tâtonnements, fixé notre choix sur un corps de nature alcaloïdique, de faible toxicité, dont les transformations éventuelles dans l'organisme viendraient ajouter leur intérêt à celui de son élimination : la caféine répond à ces conditions. Comme un grand nombre de composés azotés résultant du fonctionnement normal de la cellule vivante, animale ou végétale, cette substance se rattache à un noyau fondamental, celui de la purine représenté par le schéma suivant :



dans lequel une oxydation, portant sur les groupes en position (2) et (6), donne une dioxypurine, la xanthine, dont le dérivé triméthylé en (1), (3), (7), constitue la caféine :



Une telle substance peut s'éliminer partiellement en nature, mais également retourner à l'état de composé purique, ces corps étant, à leur tour, suscep-

tibles d'aboutir à l'urée, par l'intermédiaire de l'allantoïne comme terme de passage. On sait, en effet, que l'acide urique administré au chien ou au lapin peut être transformé dans la proportion de 95 % en allantoïne, tandis que l'allantoïne elle-même, administrée aux mêmes animaux, se retrouverait presque intégralement dans l'urine. Elle représenterait donc le produit terminal du métabolisme des bases puriques chez ces animaux (Schittenhelm, Wiechowski, Minkowski, Luzato). Bien que de tels faits aient été également mentionnés, puis étudiés par Fosse et A. Brunel dans le cas des herbivores, il nous a paru utile d'en apporter de nouvelles observations. Cette partie de notre travail devait emprunter un intérêt particulier à l'application d'une méthode de dosage de l'allantoïne, aussi simple que précise, due au Professeur Fosse. Nous sommes allés en apprendre la technique dans son laboratoire du Muséum d'histoire naturelle, sous l'aimable direction de M. Arthur Brunel.

* * *

Le but fondamental de nos recherches se présentant ainsi comme une étude expérimentale de l'influence de certaines eaux minérales sur le fonctionnement du foie et du rein, vis-à-vis de substances bien définies et de toxicité relativement faible, nous avons fixé le choix de ces substances — cuivre et caféine — de façon que les constatations accessoires

de nos recherches fussent, en outre, susceptibles d'apporter une contribution utile à la solution d'une question toujours litigieuse, la toxicité relative du métal, de même qu'à la connaissance plus complète des transformations de l'alcaloïde.

PREMIÈRE PARTIE

EXPÉRIENCES SUR LE CUIVRE

GÉNÉRALITÉS

Nous croyons intéressant de faire précéder l'exposé de nos expériences d'un résumé des notions les plus courantes sur la toxicité des composés du cuivre.

Nous lisons dans la *Chimie toxicologique* d'Ogier et Kohn-Abrest (1924, p. 721) :

« Peu de questions sont plus obscures que celle de la toxicité des composés cuivriques. Si l'on consulte des statistiques anciennes, on s'aperçoit qu'au point de vue de la fréquence des cas d'empoisonnement, les sels de cuivre viennent au troisième rang, après l'arsenic et le phosphore. Dans le peuple, ces composés avaient conservé la réputation de poisons violents : le verdet, le vert-de-gris, le sulfate de cuivre sont toujours considérés comme des substances éminemment dangereuses, bien que la très grande majorité des empoisonnements par les sels de cuivre n'aient point d'issue fatale.

« Parmi les travaux qui ont trait à la toxicité des sels de cuivre, beaucoup tendent à démontrer que

cette toxicité a été fortement exagérée ; certains auteurs vont même jusqu'à dire que l'empoisonnement aigu par le cuivre est impossible, et que l'empoisonnement chronique n'existe pas. En réalité, des observations nombreuses et sûres démontrent que le cuivre peut réellement donner la mort, mais que, dans la majorité des cas, les sels cuivriques, qui sont des émétiques violents, sont éliminés, très promptement et en presque totalité, par les vomissements, en sorte que l'absorption de doses massives de ces sels n'entraîne pas nécessairement la mort.

« Quant à la toxicité des sels de cuivre pris à petites doses, elle a été certainement exagérée ; c'est ce que démontrent d'une manière indubitable les travaux de Galippe, de Chaussier, de Burq, de Bourneville et d'autres. L'organisme supporte assez bien des quantités notables de sels cuivriques et l'accoutumance s'établit vite. »

Page 726, les mêmes auteurs ajoutent :

« Il est tout à fait impossible de dire à quelle dose les sels de cuivre produiraient des accidents mortels. Nous avons dit, en effet, qu'en raison de leurs propriétés émétiques, ils sont promptement éliminés, du moins en très grande partie, par les vomissements, en sorte qu'il n'y a aucun rapprochement à faire entre la quantité introduite dans l'estomac et celle qui pénètre réellement dans l'organisme. Des doses de 2 à 5 décigrammes de sulfate de cuivre ne sont certainement pas dangereuses

pour l'homme ; si, pour une raison quelconque, les vomissements ne se produisaient pas ou étaient très peu abondants, il est probable qu'un poids de sulfate de cuivre voisin de un gramme pourrait amener des accidents graves. »

Enfin, page 727 :

« Le cuivre s'accumule dans le foie. Bourneville et Yvon ont trouvé 295 milligrammes de métal dans le foie d'une femme épileptique soumise à un traitement par le sulfate de cuivre, traitement qui avait duré quatre mois et pendant lequel elle avait ingéré 43 grammes de sel. Dans les expériences de Galippe, un chien qui avait absorbé pendant 124 jours, 0 gr. 50 d'acétate de cuivre, avait un foie pesant 260 grammes, et contenant 0 gr. 31 de cuivre métallique ; chez un autre chien, en ayant absorbé 98 gr. en 150 jours, le foie, du poids de 300 grammes, contenait 0 gr. 223 de cuivre. C'est surtout par la bile qu'a lieu l'élimination de cuivre. L'urine renferme aussi du cuivre : l'élimination se fait avec lenteur par cette voie ; on a constaté quelquefois de l'albumine. »

Puis, dans la *Toxicologie chimique* du professeur Barthe (1918, p. 214 et 215), nous lisons :

« Le cuivre est plus connu par la discussion dont il a été l'objet, comme toxique, que par son emploi thérapeutique. Quoi qu'en dise Galippe, les sels de cuivre sont parfaitement capables de provoquer des accidents d'empoisonnements mortels (Bonnet, Cabannes) ; le plus souvent, il est vrai, après l'in-

gestion, le vomissement expulse le poison et empêche l'absorption. Si celle-ci a lieu, le phénomène provoqué se rapproche de ceux que déterminent le phosphore et le chlorate de potasse » (Arnozan, 1902).

« Toutefois, on ne saurait nier la toxicité des sels de cuivre en général. On peut dire que les sels de cuivre solubles sont de puissants émétiques ; mais ils peuvent devenir toxiques. Le carbonate de cuivre est à peu près inoffensif. Quand les sels de cuivre sont combinés à une matière organique, et surtout à une matière albuminoïde, ils passent dans l'organisme sans aucun inconvénient. »

Enfin Lewin, dans son *Traité de toxicologie* (1903, p. 328), déclare :

« Lorsqu'on fait pénétrer le cuivre par voie d'injection veineuse et sous forme d'albuminate dissous dans une liqueur faiblement alcaline, il manifeste alors des propriétés violemment toxiques qui se traduisent, *grosso modo*, par de la paralysie musculaire et une asphyxie déterminant la mort. Le sel de cuivre peut alors se diffuser librement dans l'organisme et exercer son action nocive sur les éléments anatomiques. J'ai déjà appelé l'attention, à propos du bismuth, sur cet artifice permettant d'introduire et de faire circuler la substance toxique dans l'économie, d'en imprégner l'organisme »...
« Enfin le foie joue ici, à titre d'antitoxique, un rôle tout particulièrement remarquable, en raison de l'électivité de localisation du cuivre dans le foie et de l'élimination par la bile. »

Quelle opinion peut-on dégager des exposés de la question de toxicité des sels de cuivre telle que la présentent les toxicologues précédents ?

C'est que, d'abord, il est difficile de donner un renseignement précis, quand il s'agit de la voie digestive, en raison des quantités de sels rejetées par les vomissements ou entraînées par les déjections alvines provenant d'entérites fréquemment observées. Cependant Pecholier et Saint-Pierre, cités par Kohn-Abrest (p. 725), ont vu des lapins succomber, en 12 à 14 heures, à l'ingestion de 16 à 20 centigr. d'acétate de cuivre, avec ralentissement de la circulation et collapsus profond. Si Bourneville a pu donner jusqu'à 30 centigr. de sulfate par dose quotidienne, il n'y réussit qu'avec le concours d'une certaine accoutumance, ce qui ne nous fait pas connaître la dose mortelle chez un sujet non accoutumé.

En accord avec la remarque de Lewin, citée plus haut, nous pensons que la voie intraveineuse, en portant les composés du cuivre jusqu'aux éléments anatomiques sur lesquels ils exerceront une action élective, peut permettre de déterminer, avec moins d'incertitude, la limite des doses compatibles avec le fonctionnement normal de l'organisme.

Les injections sous-cutanées produisant des eschares, quelle que soit la réaction du sel employé, nous les avons abandonnées.

EXPOSÉ DES MÉTHODES

Nous avons choisi le chien comme animal d'expérience pour deux raisons principales : 1^o les injections intraveineuses sont d'une exécution commode aux pattes postérieures ; 2^o la récolte des fèces peut se faire facilement et sans perte.

Méthode de dosage du cuivre.

A. — DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

VISCÈRES.

a) *Traitement préalable.* — Le chien étant sacrifié par anesthésie au chloroforme, on prélève les organes les plus intéressants cerveau, reins, foie, après ligature du cholédoque. La bile est alors recueillie séparément et les organes sont débarrassés des tissus conjonctifs ou graisseux. On les lave à l'eau, puis on les divise en petits fragments. Ceux-ci sont lavés rapidement à nouveau, à trois reprises, à l'eau distillée, et essorés dans un linge. On les pèse, puis on les répartit dans de larges cuvettes et on sèche à 100°. En un temps variant de 24 à 48 heures, la dessiccation est complète.

b) *Incinération* (1). — L'organe sec est alors incinéré. Les fragments desséchés sont placés dans une

1. Méthode de A. Desgrez et J. Meunier.

capsule de porcelaine de capacité très supérieure au volume introduit, car un boursoufflement de la masse se produit au début de la calcination. A l'aide d'un bec Bunsen de porcelaine, afin d'éviter une introduction de cuivre, on enflamme la masse en l'exposant directement à la flamme et en faisant arriver celle-ci à la partie inférieure de la substance. On brasse constamment avec une spatule de porcelaine, préalablement chauffée. La capsule doit être légèrement inclinée pour permettre l'accès de l'air comburant. Très rapidement, la masse organique brûle d'elle-même et on supprime le bec. Il suffit alors de la remuer, afin de remplacer la partie supérieure qui est au contact de l'air, par la partie inférieure. L'agitation constante a une grande importance. Elle permet d'obtenir un produit homogène, ce qui est nécessaire à une bonne suite de l'opération. La capsule qui s'était tapissée de produits goudronneux, ne tarde pas à blanchir, puis la flamme provenant de la combustion des organes s'éteint. On expose alors à la flamme du bec, tenu à la main et renversé, la partie supérieure de la masse. Dès qu'on ne voit plus de flammèches blanches, on détourne cette partie avec la spatule, et on chauffe la couche sous-jacente. Il s'est finalement produit un charbon léger qui ne contient plus de matières organiques. Ce charbon est transvasé dans un mortier, très finement pulvérisé puis placé dans une petite capsule de porcelaine, en le tassant modérément. Celle-ci est légè-

rement chauffée sur un fourneau à gaz dont la flamme est aussi petite que possible. La masse charbonneuse interne devient incandescente et brûle spontanément peu à peu. Il suffit de l'explorer à l'aide d'une spatule pour s'en assurer. Il convient de donner la flamme minima suffisante pour assurer ce résultat. On évite ainsi l'agglomération des fines particules de charbon, ce qui nuirait à l'opération. Pour assurer cette combustion catalytique, il suffit que le fond de la capsule soit porté à une température de 300 à 350°. En 24 heures, on constate une diminution considérable de la masse charbonneuse, qui présente alors une tendance à s'agglomérer et le charbon ne brûle plus aussi facilement. On épuise alors le résidu à l'eau chaude, et l'on filtre sur un entonnoir de Büchner. Il est quelquefois nécessaire d'utiliser de l'eau légèrement chlorhydrique. Presque toujours, avec les organes, l'urine ou les fèces, il restera un peu de silice insoluble sur le filtre. Le résidu est séché et soumis à une nouvelle combustion qui est alors très rapide. On obtient ainsi, sans avoir employé d'autre réactif qu'une chaleur modérée, un résidu presque blanc, et que, pour abréger, on pourra blanchir complètement par quelques gouttes d'acide azotique. Mais une nouvelle reprise par l'eau, suivie d'une filtration et d'un nouveau chauffage, aurait suffi pour assurer des cendres parfaitement blanches.

On voit l'intérêt de cette méthode, qui permet d'éviter toute erreur due à l'impureté des réactifs.

URINES.

Pour l'urine, nous l'avons évaporée au bain-marie par portions telles que le résidu sec obtenu fût d'environ 100 à 150 grammes. Puis, nous avons commencé la calcination par exposition directe de la surface à la flamme. Les croûtes formées étaient transportées dans une seconde capsule. Lorsque toute la masse du résidu était sous cette forme, la méthode indiquée plus haut s'appliquait parfaitement.

FÈCES.

Quant aux matières fécales, la calcination en est facile et rapide, par suite de la grande quantité de matières minérales qu'elles contiennent.

B. — DOSAGE DU CUIVRE DANS LES CENDRES

Les liqueurs contenant les sels en dissolution sont étendues à un volume connu dont on prélèvera une partie aliquote.

Sur cette partie, on effectuera le dosage du cuivre.

La précipitation par l'hydrogène sulfuré nous a semblé la méthode la plus pratique. Nous avons opéré de la manière suivante :

Après s'être assuré, au tournesol, d'une légère acidité chlorhydrique, la liqueur est introduite dans un vase à précipitation chaude et portée à 70° environ. On fait alors arriver un courant régulier et lent d'hydrogène sulfuré, en continuant à chauffer, de

manière que la température de 70° soit maintenue. Un précipité diffus apparaît en un temps variable suivant la concentration de la liqueur; mais, sous l'action de la chaleur et de l'hydrogène sulfuré qui brasse l'ensemble, il ne tarde pas à s'agglomérer. Le liquide qui le baigne est alors parfaitement limpide. On arrête l'opération à ce moment, la précipitation est terminée. Le temps nécessaire à l'obtention de ce résultat varie entre 15 et 45 minutes. On recueille alors le sulfure sur filtre et on le lave immédiatement et sans interruption, d'abord avec une solution d'hydrogène sulfuré, puis avec de l'eau distillée bouillante. On porte à l'étuve. Lorsque le précipité est parfaitement sec, on en détache la majeure partie à l'aide d'une petite spatule, puis on calcine le filtre dans un petit creuset taré, auquel il est possible d'adapter un couvercle. On laisse refroidir et on ajoute alors le précipité de sulfure de cuivre précédemment recueilli. Le tout est recouvert de soufre combustible sans résidu. On adapte le couvercle et on chauffe avec précaution. On voit bientôt les vapeurs de soufre s'enflammer autour du couvercle, puis le dégagement cesser. On continue alors à chauffer, pendant quelques secondes, puis on porte au dessiccateur. On pèse après avoir retiré le couvercle.

Si l'opération a été bien conduite, on devra avoir, au fond du creuset, du sulfure cuivreux Cu_2S , d'éclat métallique, parfaitement cristallisé (l'examiner à la loupe).

Si on désire exprimer le résultat en cuivre métal, il suffira de multiplier le résultat par 0,798.

Pour de petites quantités de sulfure de cuivre, il ne nous a pas semblé avantageux de faire le traitement au soufre. En calcinant à l'air libre, le creuset étant incliné et la pénétration de l'air se faisant ainsi facilement, on obtient de l'oxyde cuivrique noir, après passage par les sous-oxydes intermédiaires. Nous n'avons jamais, dans le cas envisagé, observé de différences notables en opérant par les deux procédés.

EXPÉRIENCES.

L'expérience a porté sur deux chiens mâles et a duré 41 jours. Chaque animal a reçu, quotidiennement, 87 milligrammes de sulfate de cuivre hydraté, sous la forme de pilules molles incorporées à de la viande crue, soit 3 gr. 40 en 39 jours ou 1 gr. 077, exprimé en $\text{Cu}^2 \text{S}$.

L'un et l'autre ont manifesté, vers le 35^e jour, une répulsion marquée pour l'aliment contenant le cuivre. Le 40^e et le 41^e jour, les animaux refusèrent d'ingérer la viande crue, avec ou sans cuivre. Toutefois, ils acceptaient encore facilement leur pâtée cuite. A ce moment, l'expérience ne pouvant plus se continuer normalement, les deux chiens ont été sacrifiés le 41^e jour, par anesthésie chloroformique. Pendant toute la durée de l'expérience, ils avaient reçu chaque jour, le premier 50 cmc. d'eau de Vichy (source de l'Hôpital), le second 50 cmc. d'eau ordi-

naire (eau de la Vanne). La pâtée alimentaire, composée de pain et de viande cuite, était qualitative-ment la même pour chaque chien, la quantité étant proportionnée au poids.

	N ^o 1 (Eau de Vichy)	N ^o 2 (Eau de la Vanne)
Poids initial des chiens.....	10 kgr. 500	8 kgr. 700
Poids final (41 ^e jour).....	11 kgr. 340	10 kgr. 400

Les deux animaux ont donc augmenté de poids l'un et l'autre. A leur arrivée de la Fourrière, ils présentaient d'ailleurs un état de maigreur accentuée et un appétit très marqué.

Les analyses ont donné :

		N ^o 1	N ^o 2
Foie	Poids	340 gr.	325 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0165	0 gr. 024
Reins	Poids	55 gr.	63 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0012	0 gr. 0012
Cerveau	Poids	48 gr.	55 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0004	0 gr. 0002
Sang	Cu ² S p. 1.000	0 gr. 0090	0 gr. 0100
Urines des 26 premiers jours : vol.		10 lit. 800	14 lit. 800
Urines des 14 derniers jours : vol.		4 lit. 840	7 lit. 400
	Cu ² S (26 jours)	0 gr. 0150	0 gr. 0120
	(14 jours)	0 gr. 0250	0 gr. 0180

Résultats. — 1^o La limite de tolérance du sulfate de cuivre, administré par la voie digestive, sans perte par vomissements ou diarrhée, paraît être, pour le chien, voisine de 0 gr. 087, pour un animal pesant 9 kgr. 600 (poids moyen des deux chiens), ce qui ferait 9 milligrammes par kilogramme d'animal, soit 2 mgr. 85 exprimés en Cu²S pour faciliter la comparaison avec les expériences suivantes ;

2° L'élimination du cuivre par la voie rénale est favorisée par l'eau de Vichy (source de l'Hôpital) dans le rapport de 40 à 30 milligrammes, malgré une moindre diurèse. On observe également, sous la même influence, comme l'indiquent les dosages, une accumulation plus grande du métal dans le foie (rapport de 24 mgr. à 16). La protection s'est donc exercée par le fonctionnement du rein (élimination) et par celui du foie (fixation) ;

3° Si, d'autre part, on considère, qu'en cette expérience, les chiens ont reçu 1 gr. 077 de cuivre exprimé en sulfure, on verra combien est grande la différence de localisation, dans le foie, entre cette expérience et les suivantes (administration intraveineuse) où la fixation peut être considérée comme presque totale. Alors que, pour 1 gr. 077 de cuivre exprimé en sulfure, administré par la bouche (0 gr. 027 par jour) on trouve, pour le foie, 0 gr. 0165 et 0 gr. 024 de cuivre exprimé en sulfure, dans la troisième expérience où 0 gr. 134 de cuivre en (Cu^2S) ont été administrés (0 gr. 013 par jour), on trouve, dans le foie, 0 gr. 0760 et 0 gr. 0900 de sulfure.

ADMINISTRATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Deux chiens ont reçu, par la bouche, chaque jour, le premier, 50 cmc. d'eau de Vichy (Hôpital) ; le second, un volume égal d'eau ordinaire (Vanne).

De même, chacun d'eux a reçu, par voie intravei

neuse, une injection quotidienne de citrate de cuivre ammoniacal (1), chaque injection apportant 0 gr. 012 de cuivre évalué en Cu^2S , ce qui donne, les animaux étant sensiblement de même poids, 1 mgr. 4 par kilogramme.

Il s'est produit, vers le huitième jour, un état de cachexie révélant une intoxication profonde à laquelle le n° 2, beaucoup plus malade, allait succomber en quelques heures. Sans attendre la mort, qui eut été plus tardive pour le n° 1, on a immédiatement sacrifié les deux animaux par anesthésie, pour obtenir des résultats analytiques comparables.

	N° 1 (Eau de Vichy)	N° 2 (Eau de la Vanne)
Poids initial des animaux...	8 kgr. 500	8 kgr. 700
Poids final.....	8 kgr. 750	7 kgr. 700

Le poids du n° 1 (eau de Vichy) a donc légèrement augmenté, alors que celui du second (eau ordinaire) a fortement diminué.

Les analyses ont donné :

		N° 1	N° 2
Foie	Poids	395 gr.	315 gr.
	Cu^2S	0 gr. 0470	0 gr. 0320
Urines	Volume total	3 lit. 060	2 lit. 565
	Cu^2S 4 pr. jours	0 gr. 0090	0 gr. 0032
	3 dern. jours	traces	0 gr. 0045
	Urobiline	traces	Quant. notable
Fèces	Cendres	37 gr.	19 gr. 5
	Cu^2S	0 gr. 0180	0 gr. 0188

1. Ce sel, chimiquement pur a été mis gracieusement à notre disposition par M. Billon, directeur aux Etablissements Rhône-Poulenc.

Résultats. — 1^o La dose toxique de cuivre — mortelle en 8 jours — à l'état de citrate ammoniacal, injecté par voie intraveineuse, est voisine de 1 mgr. 4 de métal, compté en Cu^2S , par kilogramme d'animal.

2^o L'influence de l'eau de Vichy (Hôpital), comparée à celle de l'eau ordinaire, a été de permettre, malgré le toxique, une légère augmentation du poids de l'animal et de lui conférer une résistance plus grande à l'action nocive du cuivre. Ce résultat peut s'expliquer par une fixation plus marquée de ce métal par la cellule hépatique (47 mgr. contre 32).

L'urobiline urinaire, dont la proportion s'élève quand le foie fléchit, est beaucoup plus abondante chez l'animal qui a reçu l'eau ordinaire. L'eau minérale a donc exercé, de plus, une certaine protection de la cellule hépatique.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Deux chiens ont reçu, chaque jour : le premier, 50 cmc. d'eau de Vichy (Hôpital) ; le second, un volume égal d'eau ordinaire.

Injection intraveineuse quotidienne de citrate de cuivre ammoniacal, chaque injection apportant 0 gr. 014 de cuivre compté en Cu^2S . Cette dose correspondait, en Cu^2S , à 2 mgr. 2 par kilogramme d'animal, pour le n^o 1, et à 2 mgr. 1 pour le n^o 2.

L'expérience n'a pû durer que cinq jours, le n^o 1 étant mort, l'autre, qui était très malade, a été sacrifié par anesthésie.

	N ^o 1 (Eau de Vichy)	N ^o 2 (Eau de la Vanne)
Poids initial des chiens.....	6 kgr. 150	6 kgr. 500
Poids à la mort.....	5 kgr. 200	5 kgr. 350

Le n^o 1 a donc diminué de 0 kgr. 950, et le n^o 2 de 0 kgr. 650.

Les analyses ont donné :

		N ^o 1	N ^o 2
Foie	Poids	252 gr.	308 gr.
		Cu ² S 0 gr. 0457	0 gr. 0335
Reins	Poids	42 gr.	48 gr.
		Cu ² S 0 gr. 0022	0 gr. 0017
Urines	Volume total	770 cc.	1880 cc.
		Cu ² S 0 gr. 0070	0 gr. 0043
Fèces	Cendres	8 gr. 5	23 gr. 5
		Cu ² S 0 gr. 0092	0 gr. 0081

Résultats. — 1^o La dose de métal injecté étant ici de 2 mgr. 2 (en Cu²S), pour le n^o 1, et de 2 mgr. 1 pour le n^o 2, par kilogramme d'animal, et le premier ayant présenté des signes d'intoxication plus accentués (entérite grave les deux derniers jours), on peut en déduire que la dose mortelle, par intoxication aiguë, est voisine de 2 milligrammes par kilogramme ;

2^o La fixation du métal par le foie est plus marquée chez le n^o 1 ;

3^o L'eau de Vichy a provoqué, par les voies rénale et intestinale, une élimination de cuivre supérieure à celle produite sous l'influence de l'eau ordinaire.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — Deux chiens ont reçu,

chaque jour, le n° 1, 50 cmc. d'eau de Vichy (Hôpital); le n° 2, le même volume d'eau ordinaire.

Injection intraveineuse quotidienne de citrate de cuivre ammoniacal, chaque injection apportant 0 gr. 0134 de cuivre, compté en Cu^2S , soit 1 mgr. 4 par kilogramme, les deux animaux ayant sensiblement le même poids. La dose de toxique injectée étant notablement plus faible que dans l'expérience précédente, les animaux ont présenté une plus grande résistance. Cependant, au 40^e jour, l'un et l'autre manifestant pour la nourriture une répulsion presque absolue, on les a sacrifiés.

	N° 1 (Eau de Vichy)	N° 2 (Eau de la Vanne)
Poids initial des chiens.....	9 kgr. 150	9 kgr. 050
Poids à la mort.....	8 kgr. 200	8 kgr. 950

Les analyses ont donné :

		N° 1	N° 2
Foie	Poids	430 gr.	410 gr.
	Cu^2S	0 gr. 0760	0 gr. 0900
Reins	Poids	66 gr.	65 gr.
	Cu^2S	0 gr. 0050	traces
Cerveau	Poids	48 gr.	60 gr.
	Cu^2S	traces	quantité plus marquée
Urines	Volume total	5 lit. 010	4 lit. 820
	Cu^2S	0 gr. 0056	0 gr. 0064
Fèces	Cendres	82 gr.	48 gr.
	Cu^2S	0 gr. 0307	0 gr. 0108

Résultats. — 1° La dose toxique capable de pro-

duire, le 10^e jour, des accidents assez graves pour faire prévoir la mort à brève échéance, a été de 1 milligr. 4 de cuivre, compté en Cu^2S , par kilogr. d'animal.

2^o L'influence de l'eau de Vichy a provoqué une élimination beaucoup plus forte de cuivre par la voie intestinale que l'eau ordinaire, ce résultat paraissant se déclancher par suite de la prolongation de l'expérience, alors que, pour l'expérience de plus courte durée, c'est-à-dire au début de l'apport du métal toxique, la fonction de fixation semble, au contraire, rendue plus active. Il faut ajouter que les urines des deux animaux renfermaient une faible quantité d'albumine.

L'urine du n^o 1 contenait des traces de pigments biliaires et d'urobiline, mais des quantités bien supérieures de ces pigments ont été trouvées dans l'urine du n^o 2.

Ces constatations établissent donc également une action favorable de l'eau de Vichy contre l'intoxication.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE. — Deux chiens ont reçu chaque jour : le n^o 1, 50 cmc. d'eau de Vichy (Hôpital) ; le n^o 2, un égal volume d'eau ordinaire.

Injection intraveineuse de glyçocollate de cuivre, chaque injection quotidienne correspond à 14 milligrammes de cuivre comptés en Cu^2S , soit, les deux chiens étant de même poids (9 k.400), 1 milligr. 4 par kilogr. d'animal.

Le chien n^o 2 ayant succombé le 7^e jour, quelques

heures après l'injection, on a sacrifié immédiatement, pour rendre les analyses comparables, le n° 1 qui offrait une plus grande résistance à l'action du toxique.

	No 1 (Eau de Vichy)	No 2 (Eau de la Vanne)
Poids initial des chiens	9 kgr. 390	9 kgr. 395
Poids des chiens à la mort . .	9 kgr. 380	9 kgr. 340

Les analyses ont donné :

		No 1	No 2
Foie	Poids	390 gr.	295 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0559	0 gr. 0556
Reins	Poids	55 gr.	65 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0015	0 gr. 0040
Urines	Volume total	2 lit. 940	2 lit. 880
	Cu ² S	0 gr. 0040	0 gr. 0029
Fèces	Cendres	43 gr.	10 gr.
	Cu ² S	0 gr. 0214	0 gr. 0160

Résultats. — 1° La dose mortelle de cuivre, comptée en Cu²S, a été, au 7^e jour, de 1 mgr. 4 par kilogr. d'animal.

2° La protection par l'eau de Vichy est évidente : survie du n° 1, avec élimination plus marquée du métal par la voie intestinale, cela malgré une fixation sensiblement égale dans le tissu hépatique des deux animaux. D'autre part, chez le n° 2, fixation plus marquée dans le tissu rénal et moins de cuivre dans l'urine.

L'eau de Vichy semble donc avoir également favorisé l'élimination urinaire.

* * *

L'ensemble des expériences précédentes sur la toxicité des sels de cuivre et la protection que l'eau de Vichy peut exercer contre cette action, nous semble permettre les déductions suivantes :

1^o Par la voie digestive, une dose quotidienne de sulfate de cuivre supérieure à 9 mgr. par kilo d'animal (soit 2 mgr. 85 en $\text{Cu}^{\text{II}}\text{S}$) est restée, pendant 39 jours, compatible avec l'état de santé, sans produire de vomissements. Cependant, elle a provoqué, chez les deux chiens en expérience, une répulsion absolue pour la viande crue, même non additionnée du sel de cuivre.

L'élimination rénale du toxique s'est trouvée activée par l'administration concomitante d'eau de Vichy.

Il est intéressant de noter également que la rétention hépatique est considérablement plus faible que dans l'administration intraveineuse.

2^o En ce qui regarde cette dernière voie, une dose de 1 milligr. 4 (en $\text{Cu}^{\text{II}}\text{S}$) par kgr. d'animal peut devenir mortellement toxique en un temps assez court (7 à 10 jours). La protection par l'eau de Vichy paraît s'exercer surtout, durant les premiers jours, par fixation hépatique du métal, puis bientôt, simultanément, par élimination rénale et intestinale.

3^o Le cuivre a pu être décelé dans le cerveau, les reins, et le sang.

DEUXIÈME PARTIE

EXPÉRIENCES SUR LA CAFEINE

Nous avons indiqué, dans les généralités préliminaires, l'intérêt que présente la caféine, choisie comme substance alcaloïdique, dans des recherches analogues aux précédentes.

EXPOSÉ DES MÉTHODES.

Nous avons choisi le lapin comme animal d'expérience, afin d'éviter, le plus possible, l'apport exogène des nucléo-protéines, susceptibles de fournir des dérivés xantho-uriques.

L'administration d'eau se faisait, comme pour le chien, à l'aide d'une sonde urétrale molle. Un petit mors de bois, percé d'un large trou, et placé dans la bouche du lapin, permettait d'introduire sans difficulté la sonde dans l'œsophage.

L'urine était recueillie dans des flacons contenant quelques gouttes de chloroforme, pour en éviter les fermentations.

Les dosages ont été faits par les méthodes suivantes :

1° L'urée, à l'hypobromite de soude;

G. Desgrez

- 2° L'azote total, au micro-Kjeldahl ;
- 3° Les purines, par le procédé Haycraft-Denigès ;
- 4° L'allantoïne, par la méthode instituée par Fosse, en collaboration avec Brunel et de Graeve ;
- 5° La caféine, par une méthode que nous avons mise au point sous la direction de M. Bonn.

Les trois premières méthodes étant très connues, nous ne donnerons de détails que sur les deux dernières.

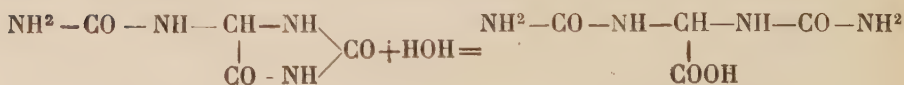
Dosage de l'allantoïne.

Peu de procédés applicables au dosage de l'élimination quotidienne d'allantoïne étaient utilisables lorsque le Professeur Fosse publia la méthode qu'il avait établie. Le procédé de Wiechowski, comme ceux qui en dérivent, ne peut s'appliquer en série, étant trop longs et trop délicats d'exécution. Au contraire, la méthode de Fosse réduit à une demi-heure environ l'ensemble des manipulations effectives.

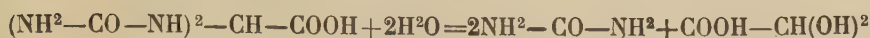
PRINCIPES DE LA MÉTHODE.

Elle est basée sur les principes suivants :

L'allantoïne, sous l'influence de la graine de *Soja hispida*, ou plutôt de l'allantoïnase qu'elle contient, donne de l'acide allantoïque :



Cet acide allantoïque, en présence d'acide chlorhydrique dilué, est hydrolysé. Il donne alors de l'acide glyoxylique et de l'urée.



Si l'on considère que la graine de soja contient également une uréase capable de détruire l'urée préexistante, en même temps que l'allantoïnase transforme l'allantoïne en acide allantoïque, on voit tout le parti que l'on peut tirer de cet ensemble de faits.

MANUEL OPÉRATOIRE.

L'urine de lapin est étendue de son volume d'eau. On en prélève 50 cmc. qu'on introduit dans une fiole conique à bouchon de verre. On pulvérise, d'autre part, finement, quelques graines de la *soja hispida* et on ajoute à l'urine 1 % de cette poudre (0 gr. 50), puis quelques gouttes de chloroforme. Le tout est porté au bain-marie à 40°. Un temps variable est nécessaire à la destruction de l'urée. Nous ne l'avons jamais obtenue en moins de 24 heures. Quelquefois, 48 heures ont été nécessaires. Par contre, en solution aqueuse contenant 1 % de sous-carbonate d'ammonium, 10 heures suffisent pour assurer la transformation en acide allantoïque de l'allantoïne (pour un titre égal ou inférieur à 1 pour 1.000).

Une prise d'essai, additionnée de 2 volumes

d'acide acétique et de $1/20$ du volume total de la solution de xanthydrol, ne devra pas se troubler en un temps compris entre $3/4$ d'heure et une heure. Comme l'acide allantoïque précipite à la longue, il n'y a pas lieu d'attendre plus longtemps.

Lorsque la prise d'essai donne un résultat négatif, l'urine ayant subi l'action du ferment est filtrée.

On prélève 10 cmc. du filtrat et, en présence de IV à V gouttes d'hélianthine, on ajoute quelques gouttes de la solution HCl 5N pour obtenir le virage, puis 0 cmc. 5 de la solution HCl N pour obtenir un titre voisin de $\text{HCl } \frac{\text{N}}{20}$.

On porte au bain-marie réglé à 60° , pendant 30 à 60 minutes.

A ce moment, tout l'acide allantoïque est transformé en urée.

On ajoute alors quelques gouttes de potasse diluée, pour alcaliniser, puis 2 cmc. de réactif de Tanret.

La matière albuminoïde dissoute précipite.

On filtre, en recueillant le filtrat dans une éprouvette, et on lave à trois reprises à l'eau distillée, de façon à obtenir 20 cmc. On ajoute un volume double d'acide acétique (40 cmc.) puis $1/20$ du volume total de la solution de xanthydrol (3 cmc.) On laisse en contact 2 heures.

Le précipité est recueilli sur filtre de Fosse, lavé à l'alcool à 50 %, séché quelques minutes à l'étuve,

La plaque de dixanthylurée est détachée du filtre et pesée.

Le poids d'allantoïne est donné par la formule :

$$\text{Allantoïne} = \text{UX}^2 \times 0,188.$$

Les réactifs nécessaires à ce dosage sont les suivants :

R. de Tanret (fort).

Bichlorure de mercure.....	2 gr. 71
Iodure de potassium.....	7 gr. 20
Acide acétique.....	66 cc. 6
Eau distillée q. s. p.....	100 cc.

Solution méthylrique de xanthydrol.

Xanthydrol.....	2 gr.
Alcool méthylrique.....	20 cc.

Filtrer.

Solution d'acide chlorhydrique N (environ)

Solution d'acide chlorhydrique 5 N (environ)

Dosage de la caféine dans l'urine.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE.

Nous nous sommes inspirés, M. Bonn et moi, du dosage de l'extrait de cola du Codex. Mais les petites quantités de caféine à doser nous ont fait préférer à un dosage direct par pesée, une précipitation préalable à l'état de silicotungstate de caféine, d'après la méthode du Professeur G. Bertrand. Le précipité recueilli est calciné et pesé,

MANUEL OPÉRATOIRE ET ESSAIS DE VÉRIFICATION
DE LA MÉTHODE.

75 à 100 cmc. d'urine sont évaporés de façon telle que le résidu ne soit plus que très légèrement humide. Celui-ci est mélangé dans la capsule, à l'aide d'un pilon, avec 15 gr. de magnésie *récemment* calcinée. Après une heure de contact, on ajoute 125 cmc. de chloroforme, desséché au préalable par un contact de 48 heures sur du sulfate de cuivre anhydre, ou distillé avec rejet des premières portions qui passent troubles.

On tare l'ensemble, et on fait bouillir $3/4$ d'heure, au réfrigérant à reflux. On laisse refroidir. On s'assure que la tare n'a pas varié et, dans le cas contraire, on la rétablit avec quelques gouttes de chloroforme. On filtre et note le volume recueilli.

Le chloroforme est distillé. Le résidu est généralement à peine teinté, si les conditions précédentes ont été soigneusement observées.

On le transvase à l'aide de quelques cmc. de chloroforme dans un Becher. Le chloroforme est évaporé. Le résidu est redissous, à chaud, dans 10 cmc. d'eau chlorhydrique à 5 %.

On ajoute alors une quantité suffisante d'une solution à 5 % d'acide silicotungstique, pour que la précipitation soit complète (environ XXVII gouttes pour 1 centigramme de caféine hydratée). On chauffe jusqu'à dissolution du précipité, puis on laisse 24 heures en contact.

Il est nécessaire de chauffer si l'on veut avoir un précipité qui ne traverse pas les filtres. On lave à l'eau chlorhydrique, on sèche et calcine. On obtient un résidu formé d'oxyde tungsto-silicique.

12 $TuO^3 SiO^2$ correspondent à 3 ($C^8H^{10}N^4O^2H^2O$)

2.844	—	636
Donc 1 gr.	—	0 gr. 2236 de caféine hydratée

Des essais ont été successivement faits avec des solutions de caféine dans l'eau chlorhydrique à 5 %.

Pour 0 gr. 01 de caféine hydratée dissoute dans 10 cmc. d'eau chlorhydrique, le poids du précipité, après calcination, était 0 gr. 0457 soit 0 gr. 0102 de caféine.

Pour 0 gr. 015 de caféine, le dosage a donné 0 gr. 0149, et, pour 0 gr. 02, on a trouvé 0 gr. 0195.

D'autre part, 150 cmc. d'urine ont été additionnés de 0 gr. 02 de caféine hydratée. Le résidu, évaporé à 7 gr., a été additionné à 15 gr. de magnésie récemment calcinée et traité comme il est dit plus haut. Le dosage a donné 0 gr. 0199 de caféine.

La même quantité d'urine, non additionnée de caféine, et traitée de la même façon, n'a donné, après 24 heures de contact avec le réactif silico-tungstique, qu'un louche très léger.

EXPÉRIENCES.

Nous avons pensé d'abord à ne doser que les quantités de caféine qui passeraient dans l'urine. Mais,

en présence des éliminations très différentes produites par les eaux envisagées, nous avons considéré qu'il serait intéressant de rechercher si ces différences ne proviendraient pas, pour une part, d'une destruction plus ou moins active de la caféine dans les tissus.

C'est pourquoi ne nous étant d'abord occupé que de l'élimination des dérivés xantho-uriques qui suivent l'administration d'alcaloïde, nous avons étendu nos recherches à l'allantoïne et à l'urée.

1^{re} EXPÉRIENCE. — Deux lapins, pesant 2 kgr. et 2 kgr. 150, reçoivent, quotidiennement, le n° 1, 50 cmc. d'eau de Vittel, le n° 2, 50 cc. d'eau ordinaire.

L'administration d'eau est faite vers 15 heures. Les aliments (choux et son), retirés le matin, ne sont rendus aux animaux qu'à 17 heures.

D'autre part, on leur injecte, sous la peau, 0 gr. 30 de caféine (solution à 25 %, formule du Codex), puis, le lendemain, 0 gr. 150.

Volume des urines le lendemain de la première injection :

N° 1 : 310 cmc.

N° 2 : 285 cmc.

Dosage de la caféine :

N° 1 : 0 gr. 0142 (élimination : 4,7 %).

N° 2 : 0 gr. 0223 (— , 7,4 %).

Volume des urines le lendemain de la deuxième injection :

N° 1 : 220 cmc.

N° 2 : 210 cmc.

Dosage de la caféine :

N° 1 : 0 gr. 0060.

N° 2 : 0 gr. 0086.

Le pourcentage d'élimination ne présente plus d'intérêt, car il peut provenir, en partie, de la fin d'élimination de la première injection.

Le jour suivant, malgré l'administration d'eau, la recherche de la caféine donne un résultat négatif.

2^e EXPÉRIENCE. — Après un temps de repos suffisant (3 semaines) les deux mêmes lapins sont remis en expérience, mais le n° 1 recevra 50 cmc. d'eau ordinaire et le n° 2, 50 cmc. d'eau de Vittel.

On injecte, d'autre part, à chaque animal, par voie sous-cutanée, 2 cmc. de la solution de caféine à 25 %, soit 0 gr. 50.

Volume des urines, le lendemain de la première injection :

N° 1 : 420 cmc.

N° 2 : 230 cmc.

Dosage de la caféine dans ces urines :

N° 1 : 0 gr. 042, élimination : 8,4 %.

N° 2 : 0 gr. 024, — 4,8 %.

On donne à nouveau 50 cmc. d'eau, mais le lapin n° 2 meurt en ayant reçu dans la trachée. L'expérience ne peut donc se poursuivre.

3^e EXPÉRIENCE. — Deux lapins nouveaux pesant 2 kgr. 250 et 2 kgr. 100, reçoivent, quotidiennement, 50 cmc. d'eau ordinaire (n° 1) et 50 cmc. d'eau

de Vittel (n° 2). On leur injecte 0 gr. 375 de caféine.

Volume des urines, le lendemain de l'injection :

N° 1 : 202 cmc.

N° 2 : 140 cmc.

Dosage de la caféine dans ces urines :

N° 1 : 0 gr. 0290, élimination : 7,73 %.

N° 2 : 0 gr. 0130 — 3,46 %.

Le lendemain de la première injection, on administre encore 0 gr. 250 de caféine.

Volume des urines, le lendemain de la seconde injection :

N° 1 : 123 cmc.

N° 2 : 113 cmc.

Dosage de la caféine dans ces urines :

N° 1 : 0 gr. 0090.

N° 2 : néant.

Les urines émises le jour suivant par chacun des deux lapins ne contiennent plus de caféine.

4^e EXPÉRIENCE. — Un lapin nouveau, pesant 1 kgr. 950, reçoit quotidiennement 50 cmc. d'eau ordinaire. Puis on lui administre, en continuant l'ingestion de l'eau, 0 gr. 375 de caféine, par injection sous-cutanée, et 0 gr. 125 le lendemain.

Les éliminations sont résumées par le tableau suivant :

Régime normal (choux et son).

Volume	Allantoïne	Purines	N. total
210 cc.	0,189		2 gr.
220 cc.	0,180		1,70
172 cc.	0,177	non	1,54
74 cc.	0,118	dosées	0,88
90 cc.	0,143		1,14

Par 24 heures

Régime normal + 50 cc. d'eau ordinaire.

Volume	Allantoïne	Purines	N. total	Caféine élim.
190 cc.	0,260	0,050	1,85	
+ 0 gr. 375 caféine				
158 cc.	0,290	0,062	1,65	0,028
+ 0 gr. 250 caféine				
130 cc.	0,145	0,063	1,36	0,012
158 cc.	0,220	0,040	1,66	néant

Par 24 heures

On administre ensuite à ce même lapin 50 cmc. d'eau de Pougues, pendant 4 jours. Puis 0 gr. 375 et 0 gr. 250 de caféine, comme précédemment. Les dosages donnent les résultats suivants :

Régime normal + 50 cc. d'eau de Pougues.

Volume	Allantoïne	Purines	N. total	Caféine élim.
240 cc.	0,270	0,050	2,24	
150 cc.	0,190	0,024	1,41	
127 cc.	0,180	0,028	1,21	
129 cc.	0,180	0,021	1,28	

+ 0 gr. 375 de caféine				
120 cc.	0,151	0,063	1,14	0,0226
+ 0 gr. 250 de caféine				
230 cc.	0,331	0,072	2,22	0,0108
150 cc.	0,222	0,030	1,38	néant
Par 24 heures				

5^e EXPÉRIENCE. — Le même lapin est soumis, après un repos de trois semaines, à l'eau d'Evian (50 cmc. par jour) après observation, pendant 4 jours, de ses éliminations normales, sans ingestion d'eau étrangère au régime. Le troisième jour qui suit l'administration de l'eau d'Evian, on injecte 0 gr. 375 de caféine et, le quatrième, 0 gr. 250.

L'administration d'eau minérale est poursuivie trois jours après la deuxième injection.

Les résultats sont réunis dans le tableau ci-joint :

Régime normal (choux et son).

Volume	Allantoïne	Purines	Urée	N. total	N. indésé	Caféine élim.
150 cc.	0,250	0,044	3,74	1,90	0,06	
169 cc.	0,301	0,059	4,46	2,25	0,05	
143 cc.	0,220	0,036	3,31	1,74	0,11	
132 cc.	0,202	0,046	3,69	1,83	0,03	
188 cc.	0,231	0,027	3,19	1,70	0,13	
+ 50 cc. Evian.						
260 cc.	0,320	0,038	4,52	2,32	0,12	
168 cc.	0,240	0,030	3,46	1,78	0,08	
+ 50 cc. Evian + 0,375 caféine.						
218 cc.	0,270	0,063	3,78	2,04	0,16	0,024

+ 50 cc. Evian + 0,250 caféine.						
246 cc.	0,240	0,067	3,97	2,09	0,14	0,013
+ 50 cc. Evian.						
268 cc.	0,221	0,021	3,56	1,87	0,23	néant
222 cc.	0,230	0,022	3,86	1,97	0,11	

Résultats. — Des expériences précédentes, que le nombre et la mise au point des dosages nécessaires ont rendues très laborieuses, nous ne retiendrons que les déductions qui nous paraissent le plus nettement établies :

1° Chez le lapin, en dehors des coefficients les mieux connus avant nos recherches, nous trouvons que la proportion d'allantoïne représente en moyenne, 6,5 % de celle de l'urée et l'azote de l'allantoïne 4,5 % de l'azote total ;

2° L'influence de l'eau d'Evian ajoutée au régime habituel (50 cc. par lapin), se manifeste par un accroissement de l'élimination de l'allantoïne ;

3° L'introduction de la caféine dans l'organisme, en même temps que l'eau ordinaire ou l'une des eaux minérales, permet de constater une augmentation marquée des purines par rapport à l'allantoïne, ce qui paraît indiquer que la transformation de la caféine, malgré un régime exclusivement végétal, s'arrête, pour une part importante, à la phase xantho-urique. Cette dernière phase paraît prépondérante chez le lapin, encore qu'infiniment moins que

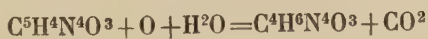
chez l'homme, où l'allantoïne urinaire ne dépasse pas quelques centigrammes par 24 heures ;

4° On est frappé par les différences des quantités d'alcaloïde éliminées, selon que les animaux ont reçu l'une ou l'autre des eaux mises en expériences. Nous trouvons 4,13 % avec Vittel, 5,85 avec Pougues, 5,95 avec Evian et 7,95 avec l'eau ordinaire. La première explication qui se présente à l'esprit, est qu'il s'agit d'influence éliminatrice plus ou moins marquée s'exerçant sur le rein. On peut cependant tout aussi bien penser à une action catalytique différente, exercée par les eaux ingérées, vis-à-vis de la destruction de l'alcaloïde par les tissus. Une telle décomposition, se faisant d'abord avec déméthylation, a été établie, pour une part de la caféine injectée, par les recherches de Schneider. D'après nos expériences, cette destruction, pour les différentes eaux essayées, atteindrait son maximum avec Vittel, puis viendraient Pougues, Evian, enfin l'eau ordinaire, qui serait la moins active.

Ce qui peut justifier cette interprétation, c'est que la proportion d'azote total urinaire augmente après administration de l'azote de la caféine, alors que celle-ci ne se retrouve en nature dans l'urine, qu'en proportion relativement faible, en accord avec les résultats obtenus par Schneider.

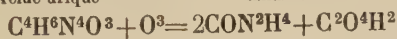
5° L'examen du tableau d'Evian montre d'abord ce fait significatif en faveur de cette eau administrée seule, sans caféine, c'est que les substances azotées déposées dans les tissus, puis entraînées,

ont donné plus d'azote urinaire que n'en a apporté la caféine. Cette augmentation a porté principalement sur l'allantoïne et l'urée. L'azote des corps indosés a cependant subi une augmentation de 7 centigrammes, ce qui tendrait à montrer que, si la caféine se détruit dans l'organisme en donnant d'abord des purines, celles-ci peuvent encore se désintégrer jusqu'à des formes plus avancées :



Acide urique

Allantoïne



Allantoïne

Urée

Acide oxalique

Nous remarquerons enfin que s'il ne s'agissait que d'une élimination rénale plus ou moins active de la caféine suivant la nature de l'eau ingérée, on devrait encore retrouver l'alcaloïde dans l'urine, après les deux premiers jours qui suivent son administration. Or elle a disparu dès le troisième jour. Il paraît donc bien s'agir d'une destruction dont l'activité, dans les deux jours qui suivent, peut être considérée comme d'autant plus grande que la proportion d'alcaloïde éliminé est plus faible. Il ne nous échappe pas que, pour résoudre définitivement cet important problème, des expériences plus nombreuses sont désirables. Les preuves qu'elles apporteraient, seraient, à leur tour, invoquées comme explication des faits si curieux observés par le professeur Billard, par Louis Violle, et André Giberton, sur l'influence antitoxique de certaines eaux

minérales vis-à-vis de toxines proprement dites ou encore d'alcaloïdes tels que la spartéine (1).

1. L. Violle et A. Giberton ont montré qu'une solution isotonique de chlorure de calcium protège le cobaye contre l'action toxique du sulfate de spartéine (*C. R. Ac. Sc.*, t 188, p. 1181).

CONCLUSIONS

Nos recherches paraissent autoriser quelques déductions que nous formulerons comme suit :

I. — EXPÉRIENCES SUR LES SELS DE CUIVRE :

1^o *Relativement à la toxicité des sels de cuivre pour le chien, l'administration par voie digestive, en évitant d'atteindre l'effet vomitif, permet une dose quotidienne très voisine d'un centigramme de sulfate (3 milligr. en Cu^2S) par kilogramme d'animal, continuée pendant 40 jours. A ce moment, le dégoût, sans doute par effet de nausées, oblige à interrompre l'expérience. L'administration, par voie intraveineuse de sels organiques (citrate ammoniacal, glycocollate) considérés comme moins nocifs que le sulfate, indique une dose voisine de 2 milligr. de cuivre compté en Cu^2S , comme capable de produire, en quelques jours, une intoxication aiguë. Une dose quotidienne de 1 mgr. 4 par kilogramme d'animal suffit d'ailleurs à provoquer la mort en 8 à 10 jours. On peut donc en déduire que, quand il s'agit de la voie intraveineuse, une dose de sel de cuivre moitié moindre que celle qui est tolérée par*

voie digestive suffit à donner rapidement des accidents mortels;

2^o *Relativement à l'influence de l'eau de Vichy (Hôpital)*, on observe une augmentation rapide de l'élimination rénale du cuivre administré par voie digestive. La même eau accroît également les processus de défense de l'organisme contre le cuivre injecté par voie intraveineuse, les premiers jours surtout, en augmentant la fixation hépatique; les jours suivants, en stimulant les éliminations rénale et intestinale;

3^o Le cuivre se localise non seulement dans le foie, mais dans le cerveau, les reins et le sang.

II. — EXPÉRIENCES SUR LA CAFÉINE.

1^o Chez le lapin recevant un régime normal (son et choux), la proportion d'allantoïne représente 6,5 % de l'urée et l'azote allantoïnique 4,5 % de l'azote total;

2^o L'influence de l'eau ordinaire ajoutée au régime augmente, suivant une notion classique ancienne, les éliminations azotées. Nous avons observé un accroissement des purines et de l'allantoïne, cette dernière se trouvant diminuée par rapport aux purines (1);

1. Déductions tirées des rapports moyens de l'azote des purines à l'azote total et à l'azote allantoïnique $\frac{\text{N. des purines}}{\text{N. total}}$

$= 0,0079$; $\frac{\text{N. des purines}}{\text{N. allantoïnique}} = 0,176$ avec régime habituel; ces mêmes rapports devenant respectivement 0,0097 et 0,198, avec adjonction d'eau ordinaire.

3^o L'addition de caféine au régime en même temps que l'eau ordinaire ou l'une des eaux minérales étudiées (Vittel, Pougues, Evian) permet de constater une augmentation marquée des purines par rapport à l'allantoïne (1). La transformation de la caféine, malgré le régime exclusivement végétal du lapin, s'arrête donc, pour une part importante, à la phase xantho-urique ;

4^o La caféine s'élimine presque complètement en 48 heures, mais en quantités très différentes suivant la nature des eaux ingérées : 4,13 % (Vittel) ; 5,85 (Pougues) ; 5,95 (Evian) ; 7,95 (eau ordinaire). Ces différences paraissent correspondre à une influence catalytique décroissante exercée par ces eaux sur la destruction de la caféine dans l'organisme, la plus forte élimination (eau ordinaire), dans les 48 heures, correspondant à l'effet catalytique le plus faible. Cette interprétation se trouve d'ailleurs conforme aux prévisions autorisées par des expériences antérieures de Billard, Louis Violle et Giberton (toxines, spartéine, etc...).

1. $\frac{\text{N. des purines}}{\text{N. allantoïnique}} = 0,176$ (régime habituel) devenant respectivement 0,204, 0,266, 0,285 avec eau 1^o ordinaire, 2^o Evian, 3^o Pougues.

Vu : le Président de la thèse,
DELÉPINE

Vu : le Doyen,

RADAIS

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

- Barthe*. — Toxicologie chimique, 1918.
- Bertrand*. — Recherche et dosage de la caféine dans plusieurs espèces de cafés (Bull. des Sc. pharm. Paris, 1902, V. 283).
- Sur un réactif général des alcaloïdes (Bull. de la Soc. Chim. Paris, 1899, I, 434).
- Berche (Van de)*. — Sur la présence et le dosage du cuivre dans le pain (Journ. de pharm. et de chimie, 1882, VI, 27).
- Desgrez (A.), Meunier (J.)*. — Sur l'incinération des matières organiques; en vue de l'analyse des éléments minéraux qu'elles contiennent; application à l'analyse du sang (C. R. Acad. sciences, 1920, CLXXI, 179).
- Desgrez (J.)*. — Contribution à l'étude de la toxicité de la caféine Thèse méd. Paris, 1925.
- Fosse (R.)*. — Recherche de l'urée dans les végétaux (C. R. Acad. Sciences, CXLV, 813).
- Sur l'activité chimique du xanthidrol et son application au dosage de l'urée (C. R. Acad. Sciences, CLVIII, 1432).
- L'Urée, 1928.
- Application de nouvelles méthodes d'analyse de l'urée basées sur l'emploi du xanthidrol (Ann. de l'Inst. Pasteur, oct. nov. déc. 1916).
- Fosse (R.) et Hieulle*. — Sur la xanthyl-allantoïne (C. R. Acad. Sciences, CLXXVII, 199).
- Fosse (R.) Brunel (A.) et de Graëve (P.)*. — Analyse quantitative biochimique de l'allantoïne (C. R. Acad. Sciences, 1929, CLXXXVI, 106-426-1067).
- Gaillard*. — Sur le dosage de la caféine (Arch. de méd. et de pharm. milit., 1902, XL, 240).
- Galippe*. — Etude toxicologique sur le cuivre et ses composés (Journ. pharm. et chimie, 1876).

- Présence du cuivre dans les céréales, farines, pains et autres substances alimentaires (Journ. pharm. et chimie, 1833, VI, 395).
- Houles et Pietra Santa.* — Action du cuivre sur l'économie (Journ. pharm. et chimie, 1884, IX, 303).
- Jones.* — Nucleic Acids, 1914.
- Lewin et Pouchet.* — Traité de Toxicologie, 1903.
- De Moulins.* — Toxicité et non toxicité des composés du cuivre (Journ. pharm. et chimie, 1886, XIII, 189, XIV, 190).
- Neubauer u. Huppert.* — Analyse des Harns.
- Ogier et Kohn-Abrest.* — Toxicologie chimique, 1924.
- Tassilly.* — Le dosage de la caféine. Thèse pharm. Paris, 1897-1898).
- Ribaut.* — Influence de la caféine sur la nutrition. Thèse méd. Toulouse, 1900-1901, n° 2.
- Smith.* — On caffèin (Clin. Cincinn, 1873, V, 205).
- Tanret.* — Sur la caféine (Bull. et Mém. Soc. Thérap. Paris, 1881, X, 53).
- Vautier.* — Détermination de la caféine dans les mélanges de cafés et de succédanés et dans les cafés sans caféine (Mitt. a. d. Geb. d. Lebens mitt elung u. Hyg. Bern. 1919, X, 273).
- Vergelot.* — La caféine, son origine, sa nature, sa constitution chimique, sa préparation, ses propriétés, ses sels, iodure de caféine, iodocaféine et sels iodés divers (J. de Méd. de Paris, 1912. 2. XXIT. 722).

919. — Imp. de la Faculté de Médec., Jouve et Cie. 15, rue Racine, Paris. — 6-30
